

VU Research Portal

Molecular Nerve Repair

Tannemaat, M.R.

2008

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Tannemaat, M. R. (2008). *Molecular Nerve Repair: The molecular properties of the injured peripheral nerve and the application of viral vectors to enhance regeneration*. [PhD-Thesis – Research external, graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Nederlandse samenvatting

Inleiding: de behandeling van zenuwletsel

Perifere zenuwen zijn verantwoordelijk voor de communicatie tussen het centrale zenuwstelsel (hersenen en ruggenmerg) en de rest van het lichaam (huid, spieren en interne organen). De perifere zenuw bestaat uit zenuwcellen (*neuronen*), die met hun cellichaam in, of vlak naast het ruggenmerg liggen en uitlopers (*axonen*) hebben naar hun doelorganen. Deze neuronen geven, door middel van elektrische geleiding over hun axonen, bewegingsopdrachten door van het ruggenmerg naar de spieren (*motoneuronen*) of gevoelsinformatie van het lichaam naar het ruggenmerg (*sensibele neuron*). Een zenuw is een omhulsel van bindweefsel met daarin duizenden axonen die op hun beurt ieder weer omhuld worden door honderden steuncellen (*Schwanncellen*). Deze Schwanncellen zorgen onder andere voor isolatie en een snelle elektrische geleiding.

Perifere zenuwen kunnen beschadigd of geheel doorsneden worden bij ongelukken of steekwonden. Een ander type van perifeer zenuwletsel kan ontstaan tijdens de geboorte. Als er tijdens de baring aan het hoofd getrokken wordt van een kind dat met een schouder vastzit in het baringskanaal, zal overrekking van de zenuwknop van de arm (*plexus brachialis*) plaatsvinden en kan zelfs een scheuring van de zenuw optreden. Op de plaats van overrekking wordt de continuïteit van de axonen verbroken en ontstaat een litteken dat veel bindweefsel bevat. Perifere zenuwbeschadigingen leiden tot verlamming en gevoelsstoornissen in de aangedane ledematen.

Als perifere zenuwen beschadigd zijn, of doorsneden of afgescheurd, dan blijven het cellichaam en het axon aan de kant van het ruggenmerg (het *proximale* deel) meestal in leven, terwijl het axon aan de kant van het doelorgaan (het *distale* deel) afsterft en door het lichaam opgeruimd wordt. De Schwanncellen in dit distale deel van de zenuwschede beginnen vervolgens verschillende “zenuwgroeistoffen” (*neurotrofe factoren*) te maken. Het beschadigde axon wordt hierdoor tot uitgroei gestimuleerd (er treedt spontaan *regeneratie* op), en kan begeleid worden door de Schwann cellen die op een rijtje klaarliggen tot het doelorgaan. Het axon groeit met een snelheid van 1 tot 5 mm/dag vanuit proximaal naar distaal om uiteindelijk weer opnieuw verbinding te maken met het doelorgaan. In het geval van totale doorsnijding zal de chirurg er snel aan te pas komen om de uiteinden weer aan elkaar te hechten. Zo wordt de functie van de zenuw weer hersteld, hoewel het soms vele maanden kan duren voordat de axonen hun doel bereikt hebben.

Het gebeurt echter regelmatig dat er geen of weinig herstel optreedt. Dit is vooral het geval als de continuïteit van de hele zenuw (inclusief steunweefsel en Schwann cellen) verwoest is, waardoor een gat ontstaat dat niet te overbruggen is door rege-

nererende axonen, of omdat de uitgroei van axonen belemmerd wordt door ernstige littekenvorming. In die gevallen wordt er operatief ingegrepen. Soms is het nodig om eerst littekenweefsel te verwijderen, waarna of de zenuwuiteinden aan elkaar worden genaaid of - als dat niet mogelijk is - het onstane defect wordt opgevuld met een “bruggetje” van een zenuw die elders verwijderd is. Hiervoor wordt meestal de nervus suralis opgeofferd, een gevoelszenuw in de kuit die verwijderd kan worden zonder dat dit leidt tot ernstige beperkingen. Dit zenuwbruggetje bevat dus geen intacte neuronen of axonen (die worden bij het verwijderen doorgenomen en gaan verloren), maar wel Schwann cellen die netjes opgelijnd in de zenuw liggen en op die manier de regenererende axonen weer naar hun juiste doelorgaan kunnen leiden. Dit type hersteloperatie leidt meestal tot regeneratie en functieherstel. Het herstel is echter nooit volledig en patiënten met een ernstig zenuwletsel houden dus altijd levenslange functionele beperkingen in de vorm van verlammingen en/of gevoelsstoornissen.

Het laboratorium: bakermat voor nieuwe therapieën?

Sinds de eerste zenuwhersteloperaties werden uitgevoerd, vanaf het begin van de vorige eeuw, zijn de microchirurgische operatietechnieken enorm verbeterd en uitontwikkeld. Toch is het herstel na een operatie is niet optimaal. Verdere verbeteringen in de prognose van patiënten met ernstige zenuwletsels zullen dus moeten voortvloeien uit de toepassing van nieuwe inzichten en recente technieken uit het laboratorium. In **Hoofdstuk 1** wordt beschreven dat de toepassing van gentherapie zo’n nieuwe, veelbelovende techniek is.

Gentherapie houdt in dat er genetisch materiaal wordt ingebracht in de cellen van een patiënt met als doel lokaal een therapeutisch eiwit “tot expressie te brengen” om een bepaalde aandoening te behandelen. “*Tot expressie*” wil zeggen, het ingebrachte gen wordt afgelezen en het bijbehorende eiwit wordt geproduceerd als lokaal “geneesmiddel”. Het inbrengen van dit genetische materiaal kan op vele manieren, maar een van de meest gebruikte methoden bestaat uit de toepassing van *virale vectoren*. Deze aanpak berust op het natuurlijke vermogen van virussen om cellen binnen te dringen en daar hun genetische materiaal achter te laten. Virale vectoren zijn virusdeeltjes waarbij alle ziekmakende virusgenen vervangen kunnen zijn door een therapeutisch gen naar keuze. Door het ontbreken van virusgenen kunnen deze vectordeeltjes zich niet voortplanten of ziekteverschijnselen veroorzaken. Deze vectoren dringen wel nog een cel binnen en laten daar het gen achter. Het inbouwen van een nieuw of een extra gen in een cel met behulp van virale vectoren wordt “*transductie*” genoemd en het betreffende gen een “*transgen*”.

De meest voor de hand liggende toepassing van gentherapie is in de behandeling van aangeboren genetische aandoeningen, waarbij een “normaal” gen in de cel wordt gebracht om de functie over te nemen van het defecte of afwezige gen. Er zijn echter

verschillende redenen waarom gentherapie ook in het beschadigde zenuwstelsel veel potentie heeft. Er zijn vele eiwitten bekend die een positief effect hebben op de uitgroei van axonen (bijvoorbeeld de hierboven genoemde neurotrofe factoren), maar deze eiwitten hebben vaak teveel bijwerkingen als ze in het hele lichaam (*systemisch*) toegediend worden, bijvoorbeeld door inspuiting in de bloedbaan. Ook kun je ze niet in pilvorm toedienen omdat ze, net als alle eiwitten al in de maag worden verteerd. Bovendien dringen deze eiwitten slecht door in zenuwweefsel als ze lokaal worden geïnjecteerd en worden ze meestal snel (binnen enkele minuten) door het lichaam afgebroken. Zeer regelmatige lokale toediening of chronische infusie is praktisch gezien niet haalbaar. Het grote voordeel van de toepassing van virale vectoren is dat je met één eenmalige vectorinjectie de cellen van het lichaam zelf kan aanzetten tot de produktie van het therapeutische eiwit, wat leidt tot een langdurige, plaatselijke afgifte. Problemen zoals bijwerkingen op andere plaatsen in het lichaam en de noodzaak van meerdere toedieningen zouden daarmee dus tot het verleden kunnen behoren en hierdoor zou het gewenste effect van de neurotrofe factoren in theorie veel krachtiger kunnen zijn.

De ontwikkeling van veilige virale vectoren heeft de laatste jaren een enorme vlucht genomen. Inmiddels zijn er over de hele wereld honderden mensen behandeld met virale vectoren voor een hele reeks aandoeningen, van rheumatoïde arthritis tot de ziekte van Alzheimer, tot dusverre nagenoeg zonder bijwerkingen. Er zijn verschillende typen virale vectoren die geschikt zijn voor toepassing in mensen. In de proeven beschreven in dit proefschrift is gewerkt met zogenoemde *lentivirale* (LV) vectoren.

De doelstelling van het onderzoek

In dit proefschrift heb ik geprobeerd twee aan elkaar verwante vragen te beantwoorden: 1) Waarom remt littekenvorming ter plaatse van het zenuwletsel - zoals hierboven beschreven - het functionele herstel? Ik heb op moleculair niveau naar een verklaring gezocht voor dit fenomeen, door te kijken of er in het litteken genen tot expressie worden gebracht die een rol spelen bij zenuwuitgroei (**Hoofdstukken 2 en 3**). De expressie van deze genen zou dan in theorie met behulp van virale vectoren aan- of uitgezet kunnen worden, maar dan moet het wel mogelijk zijn om deze vectoren in zenuwweefsel toe te passen. Hieruit volgt de onderzoeksvraag: 2) Is het mogelijk om, met behulp van virale vectoren, cellen van de humane zenuw genetisch te modificeren (transduceren) om zo lokaal en langdurig de expressie van een therapeutisch eiwit te induceren (**Hoofdstuk 4**) en leidt de virale vector-gemedieerde expressie van een neurotrofe factor tot verbeterd herstel van de doorsneden en opnieuw gehechte zenuw (**Hoofdstukken 5 en 6**)?

Het zenuwlitteken bevat verschillende eiwitten die de axonuitgroei beïnvloeden

Om de eigenschappen van het zenuwlitteken te bestuderen, hebben we onderzoek gedaan op humaan zenuwlittekenweefsel dat operatief verwijderd was. Het betrof hier materiaal van patiëntjes die tijdens de geboorte een ernstig plexus brachialisletsel hadden opgelopen, waarbij er 5 maanden na de geboorte nog geen functieherstel was opgetreden. Bij deze patiënten werd daarom een hersteloperatie uitgevoerd waarbij, na verwijdering van het littekenweefsel, zenuwen uit de kuit in het ontstane defect zijn gebracht om uitgroei van axonen naar de doelorganen van de arm te geleiden (zoals hierboven beschreven). Om te beginnen onderzochten wij of het verwijderde littekenweefsel het eiwit semaphorine 3A bevat (**Hoofdstuk 2**). Dit eiwit remt de uitgroei van axonen sterk af. Het komt ook voor in het litteken dat ontstaat bij beschadigingen van het ruggenmerg (dwarslaesies) en is een van de oorzaken van het gebrek aan herstel dat optreedt bij mensen met een dwarslaesie. Een voorbeeld: nadat de werking van semaphorine 3A was geblokkeerd bij volledig verlamde ratten met een dwarslaesie, trad er regeneratie op waardoor de verlamming gedeeltelijk verdween⁷⁸. Wij ontdekten dat in het litteken van de perifere zenuw inderdaad semaphorine 3A wordt geproduceerd (net als in het beschadigde ruggenmerg), dat dit om bundels van uitgroeiende axonen heen ligt en dat het een uitgroeibelemmende functie heeft.

Aangemoedigd door deze ontdekking hebben we vervolgens een bredere aanpak gevolgd door de genexpressie van meerdere genen tegelijk te analyseren (**Hoofdstuk 3**). Met behulp van een “micro-array”, ook wel DNA-chip genoemd, kan in één experiment de expressie van 44.000 genen in het litteken worden bekeken en vergeleken met die van een normale zenuw. Uit deze analyse bleek dat er diverse genen in het litteken een verhoogde expressie laten zien die bekend waren een rol te spelen bij littekenvorming en en bij het sturen/remmen van axon-uitgroei. Deze gegevens tonen aan dat er zelfs 5 maanden na het oorspronkelijke letsel nog littekenvorming plaatsvindt en dat de regeneratie van beschadigde axonen beïnvloed wordt door een reeks verschillende eiwitten. Door de expressie van dit soort eiwitten te beïnvloeden (bijvoorbeeld door het stilleggen van de expressie van semaphorine 3A), zouden we in de toekomst kunnen proberen het herstel van de beschadigde zenuw te verbeteren.

Virale vectoren: een nieuw instrument voor de neurochirurg?

Het tweede doel van dit proefschrift was om te kijken of virale vectoren die een gen bevatten dat codeert voor bepaalde neurotrofe factoren de regeneratie van de perifere zenuw kon bevorderen. Als eerste hebben we in **Hoofdstuk 4** onderzocht of het mogelijk is om een gen in te bouwen in de steuncellen van humane stukjes zenuw. Zoals hierboven beschreven, wordt er bij zenuwhersteloperaties vaak gebruik gemaakt van de nervus suralis, die dan dient als zenuwbruggetje. De kleine stukjes zenuw die over-

bleven hebben we gebruikt voor onderzoek. Deze stukjes kunnen gedurende enkele dagen in leven worden gehouden in een schaalpje met kweekmedium en hierdoor kon onderzocht worden of ze met behulp van een LV-vector genetisch waren te modificeren. Uiteindelijk lukte het, door injectie van de LV-vector, een transgen in de zenuw tot expressie te laten brengen. Dit kon eenvoudig waargenomen worden doordat het een gen betrof voor “green fluorescent protein”, waardoor alle cellen die het tot expressie brachten fluorescent groen werden en makkelijk zichtbaar zijn onder de microscoop. Een opvallende bevinding was, dat het niet de Schwanncellen waren die groen werden, maar vooral cellen in het omhullende bindweefsel, zogenoemde fibroblasten. Dit was onverwacht, aangezien dezelfde LV-vector in rattenzenuwen leidt tot transductie van voornamelijk Schwanncellen. Deze bevinding onderstreept hoe belangrijk het is om, naast dierproeven, ook onderzoek op humaan materiaal te doen omdat de resultaten van dierproeven niet altijd één op één te vertalen zijn naar de humane situatie.

Vervolgens hebben we onderzocht of het mogelijk was de expressie van de neurotrofe factor “nerve growth factor” (NGF) te induceren in deze humane zenuwstukjes. Dit bleek mogelijk en het zo (door fibroblasten) geproduceerde NGF was in staat de uitgroei van axonen te bevorderen in een kweekschalpje. Het is dus technisch mogelijk om met behulp van een virale vector de produktie van werkzaam NGF in de humane nervus suralis flink te verhogen. Het voordeel van het hier beschreven protocol is dat het in theorie toegepast kan worden in combinatie met zenuwherstelchirurgie, zonder dat er iets hoeft te veranderen aan de dagelijkse praktijk van de operatie zoals hij momenteel wordt uitgevoerd. De chirurg neemt de nervus suralis uit, het virus wordt in de zenuw geïnjecteerd en direct daarna wordt deze geïmplantéerd als zenuwbruggetje. De vraag is natuurlijk of een zodanig lokaal verhoogde produktie van NGF ook het herstel van de perifere zenuw bevordert. Dat hebben we dan ook onderzocht in de volgende hoofdstukken, gebruik makend van rattenmodellen voor zenuwschade. Als eerste hebben we onderzoek gedaan naar een zeer ernstig type zenuwletsel, de zogenoemde wortelavulsie. Bij wortelavulsies wordt de zenuw uit het ruggenmerg getrokken. De cellichamen van de motoneuronen in het ruggenmerg, waarvan het axon nu afgerukt is, zijn daarom niet in staat hun axonen te laten regenereren in die wortel, immers het contact is volledig verbroken. Ze worden in de loop van enkele weken steeds kleiner (*atrofie*) en gaan na verloop van tijd deels dood. Door het herimplanteren van de afgerukte zenuwwortel in het ruggenmerg ontstaat er wel weer de mogelijkheid tot heruitgroei en kan in principe de motoneuronatrofie gedeeltelijk voorkomen worden. Om deze redenen zijn er in de wereld enkele chirurgen die deze operatie bij mensen uitvoeren, maar dit is zeer controversieel. Over het algemeen worden de risico's van extra schade van een dergelijke operatie te groot geacht in verhouding tot het (slechts een enkele keer optredende) geringe functieherstel. In **Hoofdstuk 5** hebben we in een rattenmodel onderzocht of dat herstel te verbeteren is

met gentherapie voor neurotrofe factoren. Hiertoe hebben dezelfde “risicovolle” reïmplantatie uitgevoerd in een rattenmodel, maar voordat we de wortels reïmplanteerden hebben we ze eerst geïnjecteerd met LV-vectoren die coderen voor de eiwitten “brain-derived neurotrophic factor” (*BDNF*) of “glial cell line-derived neurotrophic factor” (*GDNF*). Hiermee hoopten we de atrofie van de motoneuronen te voorkomen en de uitgroei van de axonen de wortel in te verbeteren. De injectie van een LV-vector leidde tot de langdurige transductie van Schwanncellen in de wortel tot minstens 16 weken. Belangrijker nog was dat LV-GDNF de motoneuronatrofie volledig bleek te kunnen voorkomen en dat er meer axonen de geïmplanteerde wortel ingroeiden. Helaas werd dit bijzondere succes overschaduwed door een onverwacht bij-effect. Door de LV-vector gemedieerde expressie werd de GDNF concentratie plaatselijk zo hoog, dat de axonen die de wortel ingegroeid waren “bleven hangen” in de wortel, precies op de plek waar LV-GDNF geïnjecteerd was en de GDNF concentratie dus het hoogst was. In de loop van 16 weken ontstonden er op deze plek dikke kluwens van axonen die continue in cirkels leken te groeien. Dit fenomeen werd het “candy store effect” genoemd, omdat het doet denken aan kinderen die niet weg willen uit de snoepwinkel. Verderop in de zenuw, dichtbij de spieren waar de axonen verbinding mee moesten maken, bleek het aantal axonen dan ook *verlaagd* na toepassing van LV-GDNF, waardoor het oorspronkelijke doel, het verbeteren van de functionele herstel na een wortelavulsie, niet werd behaald.

Waar we ons in hoofdstuk 5 specifiek richtten op de uitgroei van motoneuronen, hebben we in **Hoofdstuk 6** gekeken naar een gemengde zenuw, dat wil zeggen een zenuw die axonen van zowel bewegings- (moto)neuronen als gevoels- (sensibele) neuronenvat, de nervus ischiadicus van de rat. Deze zenuw werd doorsneden en weer aan elkaar gehecht zoals dat in de kliniek ook zou gebeuren bij patiënten met een zenuwdoorsnijding. Vervolgens injecteerden we LV-NGF of LV-GDNF distaal van de plaats van reparatie, dus in het deel van de zenuw waar de doorsneden axonen naartoe moeten groeien. Deze opzet stelde ons in staat om de regeneratieve respons van motoneuronen en sensibele neuronenvan deze factoren met elkaar te vergelijken. Er zijn verschillende soorten sensibele neuronenvan die betrokken zijn bij de registratie van pijn, en die zijn onder andere te onderscheiden doordat de ene populatie gevoelig is voor NGF en de andere voor GDNF. We konden dus in deze proef ook kijken hoe de regeneratie van deze verschillende populaties was na de langdurige LV-vector gemedieerde lokale verhoging van de concentratie van deze stoffen.

Net als in hoofdstuk 5 bleek dat de Schwanncellen in de zenuw getransduceerd werden en grote hoeveelheden NGF en GDNF begonnen te produceren. Verder leidde ook hier weer het lokaal verhogen van de GDNF expressie ertoe dat de axonen van motoneuronen bleven hangen, het inmiddels bekende “candy store effect”, maar de sensibele axonen niet. LV-NGF had dit effect niet, maar gaf ook geen verbetering

van de regeneratie van motoneuronen. De verhoogde concentraties NGF en GDNF hadden geen significante effecten op het totaal aantal geregenereerde sensibele neuronen, maar er bleken wel veranderingen op te treden in de verschillende populaties (NGF- en GDNF-specifieke) pijn-registrerende neuronen. Dat leidde ook tot functionele effecten: bij LV-NGF toepassing bleek de pijnperceptie in het aangedane gebied ongeveer 10% sneller te herstellen, terwijl er literatuuraanwijzingen waren dat LV-GDNF juist een pijnverminderend effect zou moeten hebben. Het gevonden verschil tussen de regeneratieve respons van motoneuronen en sensibele neuronen op GDNF (wel *vs* geen “candy store effect”) en het differentiele effect van NGF en GDNF op de verschillende pijngevoelige populaties neuronen zijn beide interessante bevindingen. Echter, aangezien deze aanpak niet direct geleid heeft tot een concrete verbetering van de uitgroei van beschadigde axonen, zal er eerst nog uitgebreider onderzoek gedaan moeten worden voordat deze bevindingen vertaald kunnen worden naar klinische therapieën die het functionele herstel voor de patiënt verbeteren.

Toekomstperspectief: verdere miniaturisatie van de zenuwchirurgie?

In Hoofdstuk 7, waarin ik de resultaten samenvat en het klinische probleem nogmaals kort bespreek, probeer ik een oordeel te vellen over de diverse nieuwe bevindingen van dit onderzoek voor een mogelijk toekomstige toepassing in de perifere zenuwneurochirurgie. De toepassing van neurotrofe factoren ter verbetering van de regeneratie is in de huidige opzet een minder succesvolle aanpak gebleken. De neuronen van de perifere zenuw zijn uit zichzelf goed in staat om over lange afstanden te regenereren. Ook nieuwe, nog ongepubliceerde resultaten uit ons lab suggereren dat de expressie van diverse neurotrofe factoren al is geoptimaliseerd om de continue uitgroei van axonen te waarborgen. Zoals we zagen in hoofdstukken 5 en 6 heeft het lokaal verhogen van de concentratie van deze neurotrofe factoren (of dit nu met virale vectoren of op een andere manier gebeurt) in onze proeven voornamelijk een averechts effect gehad, waarschijnlijk omdat hiermee de natuurlijke respons en de delicate balans van groeistoffen die nodig is voor de lange-afstandsregeneratie van axonen verstoord wordt. Wel zouden neurotrofe factoren toegepast kunnen worden om bijvoorbeeld de atrofie van motoneuronen te voorkomen om die cellen beter in staat te stellen tot axonregeneratie.

Wellicht wekt het verbazing dat de beschadigde axonen kennelijk ook zonder hulp van buitenaf in staat zijn om over lange afstanden opnieuw uit te groeien, terwijl er vaak nauwelijks functioneel herstel optreedt. In hoofdstuk 7 beargumenteer ik dat een belangrijke oorzakelijke factor is dat regenererende axonen wel uitgroeien, maar niet in staat zijn het juiste eindorgaan te vinden. De ontdekking van semaphorine3A (hoofdstuk 2) en andere “axon guidance” moleculen (hoofdstuk 3) is daarom zeer interessant, omdat deze misschien gebruikt kunnen worden om richting te geven

aan uitgroeiende axonen en de kans te verkleinen dat ze verbinding maken met het verkeerde doelorgaan. De gebleken mogelijkheid van toepassing van virale vectoren voor de perifere zenuw is een ander positief resultaat omdat hiermee op zeer efficiënte wijze het effect van elk willekeurig eiwit (dus niet alleen neurotrofe factoren, maar ook bijvoorbeeld “axon guidance” moleculen) op regeneratie onderzocht kan worden in verschillende proefdiermodellen. De veiligheid en toepasbaarheid van deze vectoren wordt momenteel onderzocht in grootschalige “clinical trials”, waardoor het in de toekomst wellicht mogelijk wordt om in laboratorium behaalde resultaten met vectoren direct te vertalen naar een gentherapeutisch behandeling bij mensen.

Zoals beschreven heeft de chirurgie van de perifere zenuw een enorme technische verfijning doorgemaakt. In feite hebben we met dit proefschrift een logische vervolgstap gezet door het herstel van de zenuw op nog kleinere (moleculaire) schaal te bestuderen en te beïnvloeden met virale vectoren. Hoewel het duidelijk is dat er nog veel werk verricht moet worden voordat de virale vectoren als zeer verfijnd instrument opgenomen zullen worden in het arsenaal van de neurochirurg, hoop ik dat dit proefschrift een kleine bijdrage zal leveren aan het ontstaan van een nieuw vakgebied: de “moleculaire zenuwchirurgie”.